基于指纹图谱、模式识别及多成分定量的金花清感颗粒质量评价研究

刘庆焕[1]，白建疆[2]，张岩[1]，何常清[2]，王文彤[1*][1.天津市医药科学研究所，天津 300020；2.聚协昌(北京)药业有限公司，北京 102606]

摘要：目的 建立金花清感颗粒的 HPLC 指纹图谱，结合化学模式识别技术对其进行分析，并测定金花清感颗粒中绿原酸、芒果苷、连翘酯苷 A、黄芩苷、牛蒡苷、汉黄芩苷和甘草酸铵的含量，为其质量评价提供科学依据。**方法** 采用 Agilent Eclipse XDB-C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)，以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱，建立 13 批金花清感颗粒的 HPLC 指纹图谱，采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统结合聚类分析(cluster analysis，CA)与主成分分析(principal component analysis，PCA)对指纹图谱进行数据分析。同时测定 7 种有效成分的含量。**结果** 建立了 13 批金花清感颗粒的 HPLC 指纹图谱，相似度均>0.98，确定了 17 个共有峰，并指认出其中 8 个色谱峰，分别为 2 号峰绿原酸、4 号峰芒果苷、6 号峰甘草苷、8 号峰连翘酯苷 A、12 号峰黄芩苷、13 号峰牛蒡苷、16 号峰汉黄芩苷及 17 号峰甘草酸铵；CA 和 PCA 结果基本一致，将 13 批样品分为 2 类。多成分定量分析方法学考察结果表明，7 个指标成分在各自范围内的线性关系(r^2≥0.999 8)、精密度(RSD≤1.41%，n=6)、重复性(RSD≤1.31%，n=6)、稳定性(RSD≤2.08%，24 h)均良好；加样回收率为 97.11%~102.41%，RSD 为 0.80%~1.98%；13 批金花清感颗粒中绿原酸、芒果苷、连翘酯苷 A、黄芩苷、牛蒡苷、汉黄芩苷和甘草酸铵的含量分别为 2.109~3.008，0.378~0.616，1.379~3.629，10.146~18.485，11.789~19.210，2.208~3.526，1.308~1.810 mg·g^{-1}。**结论** HPLC 指纹图谱结合模式识别及多成分同时测定的方法快速、简便、重复性好，可为金花清感颗粒的质量评价提供参考。

关键词：金花清感颗粒；高效液相色谱法；指纹图谱；多成分定量；聚类分析；主成分分析

中图分类号：R284.1　　**文献标志码：**B　　**文章编号：**1007-7693(2021)21-2701-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.21.012

引用本文：刘庆焕，白建疆，张岩，等. 基于指纹图谱、模式识别及多成分定量的金花清感颗粒质量评价研究[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(21): 2701-2707.

Study on Quality Evaluation of Jinhua Qinggan Granules Based on Fingerprint, Pattern Recognition and Multi-components Determination

LIU Qinghuan[1], BAI Jianjiang[2], ZHANG Yan[1], HE Changqing[2], WANG Wentong[1*][*1.Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China; 2.Juxiechang(Beijing) Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 102606, China*]

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the fingerprint of Jinhua Qinggan granule(JHQGG) by HPLC, analyze them with chemical pattern recognition technology, and determine the contents of chlorogenic acid, mangiferin, forsythoside A, baicalin, arctiin, wogonoside and ammonium glycyrrhizinate in JHQGG, in order to provide a scientific basis for its quality evaluation. **METHODS** The HPLC fingerprint of JHQGG was performed on Agilent Eclipse XDB-C_{18}(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution for gradient elution, the fingerprint data was analyzed by the similarity evaluation system of traditional Chinese medicine chromatographic fingerprints combined with cluster analysis(CA) and principal component analysis(PCA). Furthermore, the contents of seven components in JHQGG were determined. **RESULTS** The HPLC fingerprint of 13 batches of JHQGG was established. The similarity were all >0.98. Seventeen common peaks were marked and 8 of them were identified, including chlorogenic acid(peak 2), mangiferin(peak 4), glycyrrhizin(peak 6), forsythiaside A(peak 8), baicalin(peak 12), arctiin(peak 13), wogonin(peak 16) and ammonium glycyrrhizinate(peak 17). CA and PCA were used to classify the 13 batches of JHQGG into two groups. The results of multi-component quantitative analysis methodology showed that the linear relationship(r^2 > 0.999 8), precision(RSD≤1.41%, n=6), repeatability(RSD≤1.31%, n=6), stability(RSD≤2.08%, 24 h) of seven components were good, the average recoveries were between 97.11% and 102.41%, and the RSD were in the range of 0.80%–1.98%. The contents of chlorogenic acid, mangiferin, forsythoside A, baicalin, arctiin, wogonoside and ammonium glycyrrhizinate in 13 batches of JHQGG were in the range of 2.109–3.008, 0.378–0.616, 1.379–3.629, 10.146–18.485, 11.789–19.210, 2.208–3.526, 1.308–1.810 mg·g^{-1}, respectively. **CONCLUSION** The method of HPLC fingerprint combined with pattern recognition and multi-components simultaneous determination is rapid, simple and reproducible, which can provide a reference for the quality evaluation of JHQGG.

作者简介：刘庆焕，女，硕士，助理研究员　Tel: (022)27236182　E-mail: liuqinghuan@126.com　***通信作者：**王文彤，女，研究员　Tel: (022)27236182　E-mail: wwt0331@sina.com

KEYWORDS: Jinhua Qinggan granules; HPLC; fingerprint; multi-components determination; cluster analysis; principal component analysis

金花清感颗粒是2009年甲型H1N1流感流行期间由北京市中医药管理局组织中西医学专家攻关论证研制而成的新药，其组方源自麻杏石甘汤及银翘散，由金银花、石膏、蜜麻黄、炒苦杏仁、黄芩、连翘、浙贝母、知母、牛蒡子、青蒿、薄荷、甘草组成，具有疏风宣肺、清热解毒之功效[1-2]。《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》由第四版便开始将金花清感颗粒作为新型冠状病毒肺炎治疗的推荐中成药[3]，临床疗效同步观察表明，金花清感颗粒作为筛选出的“三药三方”之一，对于轻度及普通型患者疗效确切[4-5]。

中药制剂均为多组分复杂体系，指纹图谱作为一种综合的、可量化的鉴定手段，能较为客观地反映全方的化学成分及其相对比例，表征物质基础和化学成分群的整体性和复杂性[6]。结合化学模式识别技术，如聚类分析(cluster analysis，CA)、主成分分析(principal component analysis，PCA)和偏最小二乘判别分析(partial least squares discrimination analysis，PLS-DA)等方法可对复杂的化学数据信息进行降维、识别、分类[6-9]。目前，关于金花清感颗粒的研究多集中在药理作用、临床观察等方面[2,10-14]，而对其质量评价方面的研究未见文献报道。本研究通过建立13批金花清感颗粒的HPLC指纹图谱，采用相似度评价结合CA和PCA等化学模式识别方法对其进行分析，同时测定7个指认成分的含量，表征金花清感颗粒化学成分的整体性、复杂性及其质量差异，以期为金花清感颗粒的质量控制和物质基础研究提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 Infinity型高效液相色谱仪，包括二极管阵列检测器(DAD)、低压四元泵、在线脱气装置、自动进样器、ChemStation工作站(美国Agilent公司)；Agilent Eclipse XDB-C_{18}色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)；AB135-S型十万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多公司)；KQ-520B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

乙腈(色谱纯，美国Sigma)；甲醇、磷酸(分析纯，天津市化学试剂供销公司)；水为娃哈哈纯净水；绿原酸对照品(批号：110753-201716；纯度：99.3%)、黄芩苷对照品(批号：110715-201318；纯度：93.3%)、甘草酸铵对照品(批号：110731-201720；纯度：97.7%)均购于中国食品药品检定研究院；芒果苷对照品(批号：MUST-18040123；纯度：98.2%)、连翘酯苷A对照品(批号：MUST-20032804；纯度：98.6%)、牛蒡苷对照品(批号：MUST-20041510；纯度：98.8%)购于成都曼斯特生物有限公司；汉黄芩苷对照品(成都康邦生物科技有限公司，批号：19101501；纯度：99.5%)；金花清感颗粒(S1~S13)，规格：每袋5 g，批号分别为20200122，20200425，20200407，20200324，20200224，20200206，20200116，20200102，20190306，20190201，20190108，20190106，20190105，生产线样品由聚协昌(北京)药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 混合对照品溶液的制备 取绿原酸、芒果苷、连翘酯苷A、黄芩苷、牛蒡苷、汉黄芩苷、甘草酸铵7种对照品适量，精密称定，置于25 mL棕色量瓶中，加70%甲醇制成含绿原酸49.8 μg·mL^{-1}、芒果苷20.5 μg·mL^{-1}、连翘酯苷A 64.7 μg·mL^{-1}、黄芩苷228.4 μg·mL^{-1}、牛蒡苷410.2 μg·mL^{-1}、汉黄芩苷74.0 μg·mL^{-1}、甘草酸铵49.3 μg·mL^{-1}的混合对照品储备液。精密量取混合对照品储备液5 mL，置于10 mL棕色量瓶中，加入70%甲醇振摇后定容至刻度，摇匀，即得混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取供试品适量，研细，取约0.2 g，精密称定，置于50 mL具塞锥形瓶中，精密加入70%甲醇20 mL，密塞，称定质量，超声处理(功率250 W，频率40 kHz)30 min，放冷，再称定质量，用70%甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液过0.45 μm微孔滤膜，即得。

2.1.3 空白辅料溶液的制备 按处方量取金花清感颗粒辅料，按“2.1.2”项下方法制成空白辅料溶液。

2.2 色谱条件

Agilent Eclipse XDB-C_{18}色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)，流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B)，梯度洗脱：0~12 min，12%A；12~13 min，

12%→16%A；13~25 min，16%→18%A；25~27 min，18%→25%A；27~47 min，25%→30%A；47~50 min，30%→40%A；50~60 min，40%→48%A；60~65 min，48%→80%A；65~70 min，80%→12%A；70~75 min，12%A；柱温 25 ℃；体积流量 1.0 mL·min^{-1}；进样量 10 μL；检测波长：0~9 min，327 nm；9~20 min，254 nm；20~33 min，327 nm；33~53 min，277 nm；53~75 min，254 nm。理论板数按黄芩苷峰计算应≥6 000。

2.3 金花清感颗粒的指纹图谱研究

2.3.1 仪器精密度试验 取金花清感颗粒样品(S1，批号：20200122)，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次，记录色谱图。以 12 号峰黄芩苷峰为参比峰，计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。结果共有峰的相对保留时间的 RSD 值均<0.53%，相对峰面积的 RSD 值均<1.87%，表明该方法的仪器精密度良好，符合指纹图谱要求。

2.3.2 稳定性试验 取金花清感颗粒样品(S1，批号：20200122)，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，分别于配制后 0，3，6，9，12，24 h 按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以 12 号峰黄芩苷峰为参比峰，计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。结果各共有峰相对保留时间的 RSD 值均<1.76%，相对峰面积的 RSD 值均<2.44 %，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.3 重复性试验 取同一批号金花清感颗粒样品(S1，批号：20200122)6 份，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以 12 号峰黄芩苷峰为参比峰，计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。因 6 份样品的称取质量不同，无法直接用峰面积进行 RSD 计算，为消除此干扰，先对峰面积进行标准化处理，将称取质量统一为同一质量后再计算。标准化峰面积 $A=a\times0.2/m$，式中 a 为实测峰面积，m 为实际称样量。结果各共有色谱峰相对保留时间的 RSD 值均<0.38%，相对峰面积的 RSD 值均<2.74%，表明该方法重复性良好，符合指纹图谱的要求。

2.3.4 指纹图谱的建立及相似度评价 采用“2.1.2”项下方法制备 13 批金花情感颗粒的供试品溶液(S1~S13)，按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。将色谱数据以 AIA 格式导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012.130723 版)”，得到 13 批样品的 HPLC 指纹图谱，以 S1 为参照图谱，多点校正法匹配色谱峰，时间宽度设定为 0.1 min，平均数法建立对照指纹图谱(R)，标定了其中稳定性较好的 17 个共有峰，共有峰占总峰面积>89%，通过对照品指认出 8 个色谱峰，分别为 2 号峰绿原酸、4 号峰芒果苷、6 号峰甘草苷、8 号峰连翘酯苷 A、12 号峰黄芩苷、13 号峰牛蒡苷、16 号峰汉黄芩苷、17 号峰甘草酸铵。其中黄芩苷的峰面积较大，保留时间适中且分离度较好，因此确定黄芩苷峰(12 号峰)为参照峰 S，见图 1。13 批金花清感颗粒指纹图谱与对照指纹图谱的相似度分别为 0.999，0.999，0.987，0.995，0.999，0.997，0.999，0.999，0.995，0.998，0.998，0.998，0.999。表明金花清感颗粒批次间相似度较好，质量较为均一稳

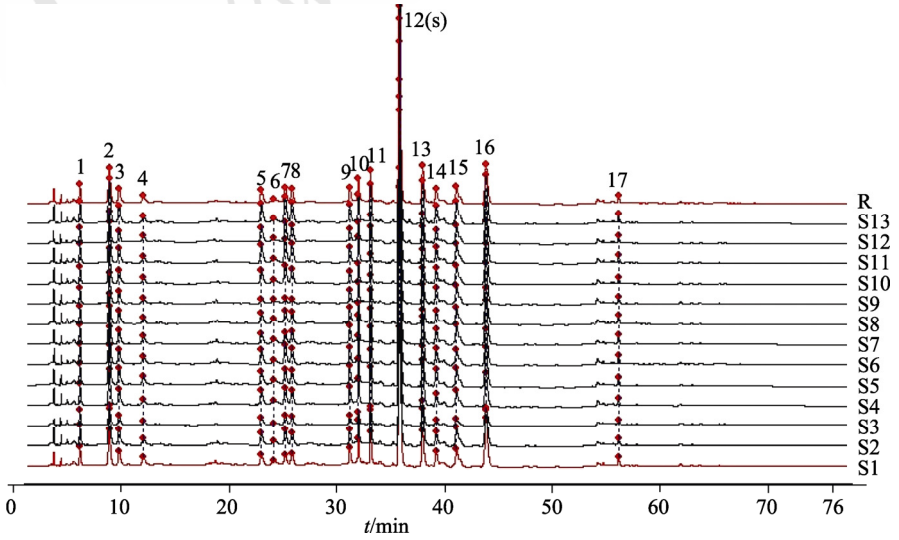

图 1 13 批供试品的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of 13 batches of sample

定。经计算，共有峰相对保留时间的 RSD 值均<1.75%，表明 13 批金花清感颗粒共有峰的出峰时间相对稳定。相对峰面积的 RSD 值相差较大，表明不同批次的金花清感颗粒各成分含量存在一定的差异。

2.3.5 CA 采用 SPSS 22.0 软件，以 13 批金花清感颗粒指纹图谱共有峰的标准化峰面积为变量，以平方欧氏距离作为样品的测度，采用 Ward 法进行 CA，结果见图 2。结果显示，当欧式距离>10 时，13 批金花清感颗粒聚为 2 类：S1、S7、S5、S11、S10、S12、S9、S13 为第 1 类；S2、S8、S6、S4、S3 为第 2 类。

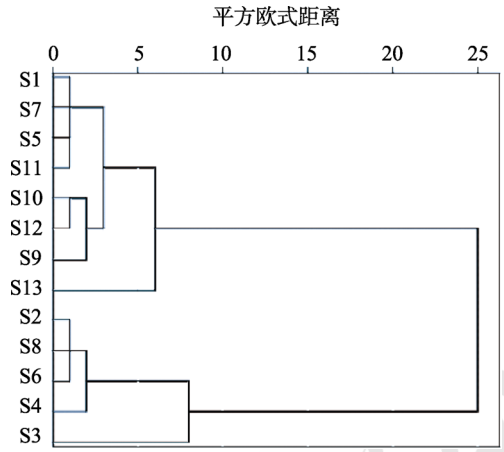

图 2 13 批金花清感颗粒聚类分析树状图

Fig. 2 Dendrogram of cluster analysis of 13 batches of Jinhua Qinggan granules

2.3.6 PCA 采用 SPSS 22.0 软件，以 13 批金花清感颗粒指纹图谱共有峰的标准化峰面积为变量进行 PCA，以特征值>1 为提取标准，得到前 3 个主成分，累积贡献率为 85.05%，见表 1。碎石图进一步表明前 3 个成分较陡，剩余其他成分之间趋于平缓，说明前 3 个主成分可以代表金花清感颗粒的整体特征，见图 3。以 13 批金花清感颗粒指纹图谱中 17 个共有峰的标准化峰面积为变量，采用 SIMCA 13.0 软件进行 PCA，得到 13 批金花清感颗粒的主成分得分图及 17 个共有峰的载荷图，见图 4~5。从得分图可以看出，13 批样品被分为 2 类，与 CA 结果一致。载荷图主要说明样品中 17 个原始变量与 3 个主成分的相关程度。其中 1，2，3，6，9，10，11，13 号峰对主成分 1 的影响最大；12，14，15，16 号峰对主成分 2 的影响最大；5，7，8 号峰对成分 3 和成分 1 的影响大，对成分 3 的影响高于成分 1；4，17 号峰对成分 2 的影响高于成分 1。

表 1 主成分的初始特征值和贡献率

Tab. 1 Initial eigenvalue and contribution rate of principal component

主成分	初始特征值	方差贡献率/%	累计贡献率/%
PC1	7.315	43.028	43.028
PC2	4.492	26.426	69.453
PC3	2.652	15.598	85.051

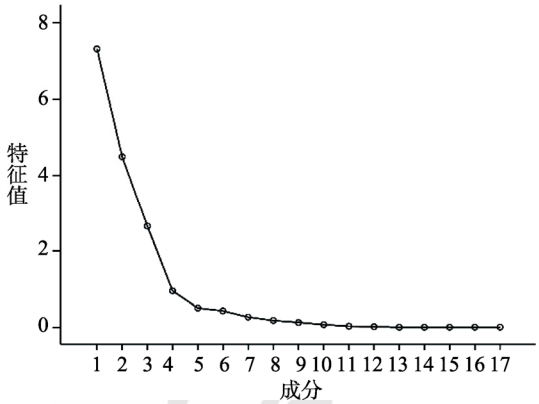

图 3 主成分分析碎石图

Fig. 3 Scree plot of PCA

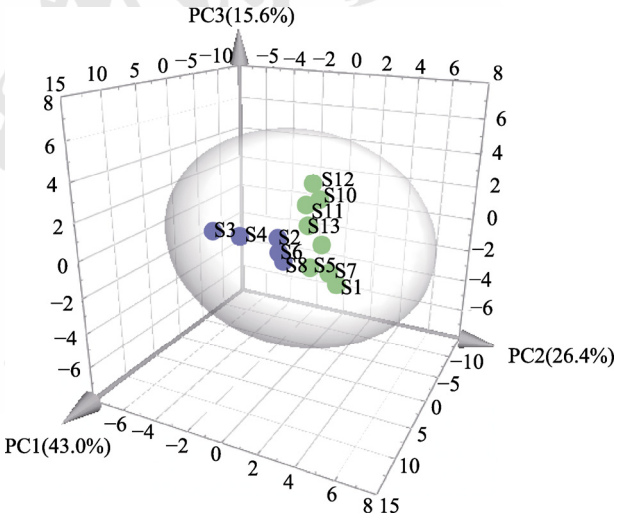

图 4 13 金花清感颗粒主成分得分图

Fig. 4 Score plot of principal component analysis of 13 batches of Jinhua Qinggan granules

2.4 金花清感颗粒中 7 种成分的含量测定

2.4.1 系统适用性试验 精密吸取“2.1”项下混合对照品溶液、供试品溶液及空白辅料溶液，按“2.2”项下色谱条件测定，见图 6。供试品色谱中在与混合对照品色谱中绿原酸、芒果苷、连翘酯苷 A、黄芩苷、牛蒡苷、汉黄芩苷及甘草酸铵相应位置位上均有色谱峰出现，且色谱峰之间的分离度均>1.5，理论板数均>7 000，满足含量测定的要求，辅料及溶剂无干扰。

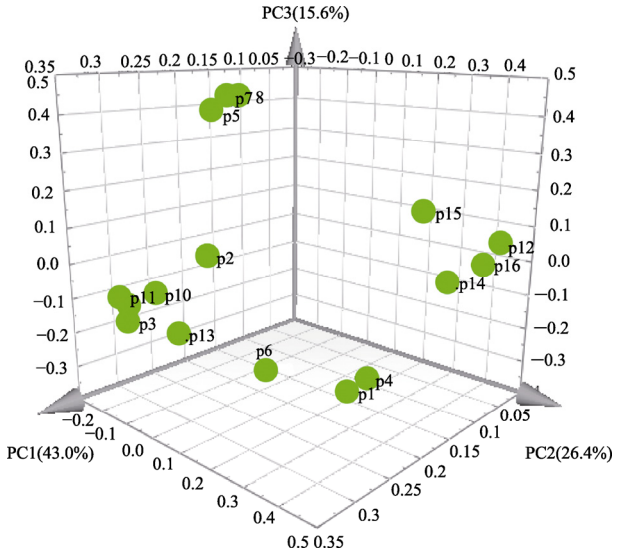

图 5 金花清感颗粒主成分载荷图

Fig. 5 Loading plot of principal component analysis of Jinhua Qinggan granules

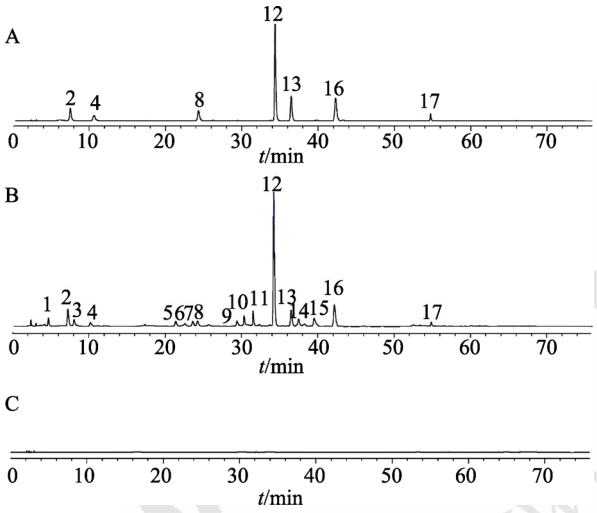

图 6 高效液相色谱图

A–对照品溶液；B–供试品溶液；C–空白辅料溶液；2–绿原酸；4–芒果苷；8–连翘酯苷 A；12–黄芩苷(S)；13–牛蒡苷；16–汉黄芩苷；17–甘草酸铵。

Fig. 6 HPLC chromatograms

A–standard solution; B–sample solution; C–blank excipient solution; 2–chlorogenic acid; 4–mangiferin; 8–forsythoside A; 12–baicalin(S); 13–arctiin; 16–wogonoside; 17–ammonium glycyrrhizinate.

2.4.2 线性关系考察 取“2.1.1”项下混合对照品储备溶液 1，2.5，5，7.5，10 mL 置于 10 mL 量瓶中加入 70%甲醇定容至刻度，摇匀，即得系列浓度对照品溶液。分别吸取 10 μL 注入液相色谱仪，按“2.2”项下色谱条件测定，以对照品浓度(*X*)为横坐标，峰面积(*Y*)为纵坐标，绘制标准曲线，得到各待测成分的回归方程及线性范围分别为绿原酸 *Y*=30.196 *X*–6.961，r^2=0.999 8，线性范围 4.98~49.85 μg·mL^{-1}；芒果苷 *Y*=41.918 *X*–11.527，r^2=0.999 8，线性范围 2.05~20.52 μg·mL^{-1}；连翘酯苷 A *Y*=14.298 *X*–3.598，r^2=1，线性范围 6.47~64.68 μg·mL^{-1}；黄芩苷 *Y*=33.338*X*–17.832，r^2=0.999 9，线性范围 22.84~228.40 μg·mL^{-1}；牛蒡苷 *Y*=5.445*X*+3.351，r^2=1，线性范围 41.02~410.22 μg·mL^{-1}；汉黄芩苷 *Y*=38.522*X*+0.622，r^2=1，线性范围 7.40~74.03 μg·mL^{-1}；甘草酸铵 *Y*= 7.156*X*–0.068，r^2=1，线性范围 4.93~49.34 μg·mL^{-1}。结果表明各成分在各自的浓度范围内线性关系良好。

2.4.3 仪器精密度试验 取“2.1.1”项下混合对照品溶液，按“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次，记录色谱图。计算绿原酸、芒果苷、连翘酯苷 A、黄芩苷、牛蒡苷、汉黄芩苷及甘草酸铵峰面积的 RSD 值分别为 0.35%，1.41%，0.65%，0.37%，0.18%，1.13%，1.07%，表明仪器精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 取金花清感颗粒样品(S1，批号：20200122)，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，分别于配制后 0，3，6，9，12，24 h 按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。计算绿原酸、芒果苷、连翘酯苷 A、黄芩苷、牛蒡苷、汉黄芩苷及甘草酸铵含量的 RSD 值分别为 0.90%，2.08%，0.73%，0.36%，0.52%，0.14%，0.69%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.5 重复性试验 取同一批号金花清感颗粒样品(S1，批号：20200122)6 份，按“2.1.2”项方法制备供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。计算绿原酸、芒果苷、连翘酯苷 A、黄芩苷、牛蒡苷、汉黄芩苷及甘草酸铵含量的 RSD 值分别 0.90%，0.91%，1.31%，0.17%，0.26%，0.18%，0.08%，表明该方法的重复性良好。

2.4.6 加样回收率试验 取已知 7 种成分含量的金花清感颗粒样品约 0.1 g，共 6 份，精密称定，分别按对照品加入量与供试品中待测成分含量的比为 1∶1 加入绿原酸、芒果苷、连翘酯苷 A、黄芩苷、牛蒡苷、汉黄芩苷及甘草酸铵对照品，按“2.1.2”项下方法制备加样回收供试品，按“2.2”项下色谱条件进样测定，计算加样回收率。结果绿原酸、芒果苷、连翘酯苷 A、黄芩苷、牛蒡苷、汉黄芩苷及甘草酸铵的加样回收率分别为 98.38%，101.39%，100.26%，98.00%，97.24%，97.11%，102.41%，RSD 值分别为 1.97%，1.94%，1.38%，0.80%，0.89%，1.56%，1.98%，表明该方法的回收率良好。

2.4.7 样品含量测定 取 13 批金花清感颗粒按

“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件进样测定，计算样品中绿原酸、芒果苷、连翘酯苷 A、黄芩苷、牛蒡苷、汉黄芩苷及甘草酸铵的含量，结果见表 2。

3 讨论

3.1 色谱条件的优化

本实验考察了甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸水溶液、乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液等不同洗脱系统，同时，以 2015 年版中国药典中检测波长为基础，结各指标成分的响应情况对一系列波长条件进行了筛选，当波长为 254，227，327 nm，流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液时，不同时间段的色谱峰的分离度较高，峰总数较多且响应值较大，故采用程序波长进行检测。供试品溶液的制备方面，考察了不同提取方式(超声、回流)、不同溶剂(乙醇、30%甲醇、40%甲醇、50%甲醇、70%甲醇、甲醇)、不同提取时间(10，20，30，40，60 min)以及溶剂量(10，20，30，40，50 mL)对色谱峰响应值的影响，确定了供试品溶液的制备方法。

3.2 指标成分的确定

根据处方组成，本实验对金花清感颗粒中可能含有的成分麻黄碱、苦杏仁苷、绿原酸、木犀草苷、芒果苷、连翘酯苷 A、连翘苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、贝母素甲、贝母素乙、甘草苷及甘草酸铵等进行了考察和筛选。以各指标的峰型、分离度、响应值及在样品中的含量等为评价指标，最终选择了其中含量和响应值均较高且具有一定代表性的 7 个指标成分进行后续测定。

3.3 结果分析

本实验建立了 13 批金花清感颗粒的指纹图谱及 7 种成分含量测定的方法，标定了 17 个共有峰，指认了 8 个色谱峰，其中 2 号峰绿原酸来源于金银花，4 号峰芒果苷来源于知母，8 号连翘酯苷 A 来源于连翘，12 号峰黄芩苷和 16 号峰汉黄芩苷来源于黄芩；13 号峰牛蒡苷来源于牛蒡子；6 号峰甘草苷和 17 号峰甘草酸铵来源于甘草，较为全面地表征了金花清感颗粒的化学信息。指纹图谱相似度>0.98，说明各批次间化学成分整体特征相似程度高，一致性良好，未见异常批次。共有峰相对保留时间的 RSD<2%，而相对峰面积的 RSD 值波动较大，说明 13 批金花清感颗粒批次间的化学成分种类差异不大而含量有所不同。借助模式识别对指纹图谱复杂的化学信息进行提取和处理，CA 和 PCA 将 13 批样品分为 2 类，体现了样品组间差异，PCA 载荷图进一步说明了各峰对主成分的影响。然而指纹图谱的模糊性使其缺乏准确的定量数据支撑，具有一定的局限性。因此后续通过多指标含量测定准确反映样品中指标成分的含量信息。含量测定结果表明不同批次间具有一定差异，造成差异的原因可能涉及：①原料药材方面(不同批次、不同产地、不同加工方式)；②生产方面(提取工艺、制备工艺等方面参数控制不同)。含量限度建议充分考虑到药材的来源、生产工艺等环节，根据指标成分在生产过程中的转移率，结合药材占处方比例及中国药典规定的含量限度制定。本方法可用于监控原料药材、生产工艺等关键环节，为生产稳定、质量一致的制剂奠定基础。

表 2 13 批金花清感颗粒的含量测定结果

Tab. 2 Results of content determination of 13 batches of Jinhua Qinggan granules

$mg \cdot g^{-1}$

样品批号	绿原酸	芒果苷	连翘酯苷 A	黄芩苷	牛蒡苷	汉黄芩苷	甘草酸铵
20200425	2.520	0.455	2.283	14.567	15.876	2.740	1.386
20200407	2.520	0.406	2.605	10.146	17.921	2.208	1.406
20200324	2.562	0.431	2.620	12.524	19.210	2.388	1.357
20200224	2.752	0.586	2.471	16.150	16.182	2.855	1.651
20200206	2.618	0.563	2.864	14.189	18.429	2.552	1.658
20200116	2.658	0.581	2.116	16.665	15.025	3.187	1.783
20200122	2.602	0.616	2.104	16.985	15.146	3.526	1.810
20200102	2.109	0.483	2.019	13.695	16.555	2.663	1.698
20190306	2.117	0.378	1.379	15.840	14.882	2.938	1.343
20190201	2.354	0.430	2.506	15.476	12.377	2.918	1.308
20190108	2.795	0.464	3.392	15.967	13.136	3.047	1.462
20190106	2.222	0.428	2.882	14.791	11.789	2.740	1.384
20190105	3.008	0.467	3.629	18.485	18.152	3.467	1.655

综上所述，本实验建立了金花清感颗粒的指纹图谱，结合相似度评价、CA 及 PCA，同时建立 7 种指标成分含量测定的方法，定性与定量相结合，兼顾了“整体性”和“专属性”，较为全面地反映了金花清感颗粒的化学信息，该法简便可靠，可为金花清感颗粒的质量控制及物质基础研究提供参考。

REFERENCES

[1] 北京市中医管理局. 北京中医药科学防治甲型 H1N1 流感: “金花清感方”新药研发纪实[J]. 北京中医药, 2009, 28(12): 981.

[2] LI G Q, ZHAO J, TU Z T, et al. Treating influenza patients of wind-heat affecting Fei syndrome by Jinhua qinggan granule: A double-blinded randomized control trial[J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2013, 33(12): 1631-1635.

[3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第四版)的通知[EB/OL]. [2020-01-27]. http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202001/4294563ed35b43209b31739bd0785e67.shtml.

[4] 李芮. 国新办举行中医药防治新冠肺炎重要作用及有效药物发布会[J]. 中医药管理杂志, 2020, 28(6): 5.

[5] 中国日报(中文网). 张伯礼: 中药金花清感治疗轻度和普通型新冠肺炎患者疗效确切[EB/OL]. [2020-03-04]. https://cn.chinadaily.com.cn/a/202003/13/WS5e6b4dd7a3107bb6b57a6546.html.

[6] CAO N N, YANG W J, LIN Y X, et al. HPLC fingerprint and multi-components determination of classical herbal prescription Zexie decoction[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51(10): 2773-2780.

[7] YANG B, ZHAO J, LIU F, et al. Quality evaluation of forsythiae fructus based on combinative method of fingerprint, pattern recognition and quantitative analysis of multi-components by single marker[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(3): 292-298.

[8] LI B X, DONG S T, MA Z. Determination of five hazardous elements in Wikstroemia from different areas and principal component analysis and cluster analysis of inorganic elements[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2019, 28(20): 2548-2552.

[9] LI Z L, ZHOU L, WANG X H, et al. Quality control research of qishen yiqi dripping pills based on UPLC fingerprint combined with chemical pattern recognition[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(14): 1754-1760.

[10] GONG P Y, GUO Y J, LI X P, et al. Exploring active compounds of Jinhua Qinggan granules for prevention of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51(7): 1685-1693.

[11] DUAN C, XIA W G, ZHENG C J, et al. Clinical observation on Jinhua Qinggan granule combined with conventional Western medicine therapy in treating mild cases of coronavirus disease 2019[J]. J Tradit Chin Med(中医杂志), 2020, 61(17): 1473-1477.

[12] MAO Y, SU Y X, XUE P, et al. Discussion on the mechanism of Jinhua Qinggan granule in the treatment of novel coronavirus pneumonia[J]. Chin Med Mat(中药材), 2020, 43(11): 2843-2849.

[13] LIN J R, ZHENG W W, ZENG G X, et al. Study on the network pharmacology of Jinhua Qinggan granules in the treatment of COVID-19[J]. Chin Med Mat(中药材), 2020, 43(8): 2070-2076.

[14] WANG C, CAO B, LIU Q Q, et al. Oseltamivir compared with the Chinese traditional therapy Maxingshigan–Yinqiaosan in the treatment of H1N1 influenza[J]. Ann Intern Med, 2011, 155(4): 217-253.

收稿日期：2020-08-06

(本文责编：曹粤锋)

http://www.chinjmap.com